

## タマネギ鱗茎の腐敗に関与する *Aspergillus niger* の走査電子顕微鏡による観察

田 中 欽 二・野 中 福 次  
(植物病理学教室)

昭和57年10月22日 受理

Observation with scanning electronmicroscope of *Aspergillus niger*,  
causal fungus of rot of onion bulb

Kinji TANAKA and Fukuji NONAKA  
(Laboratory of Plant Pathology)

Received October 22, 1982

### Summary

*Aspergillus* sp. isolated from the rotted onion bulbs was identified by morphological characteristics of its fruit bodies observed with optical and electron microscopes. Mycelial mat, vesicle and second phialide of the fungus were formed on 24, 48 and 62 hr after inoculation of conidiospores on Czapek agar media at 25 C, respectively. Conidial head having vesicle, phialide and conidia was globose, black in color and 325–720  $\mu\text{m}$  in diameter. Vesicle formed on the tip of conidiophore of 1.25–2.75 mm in height was globose and 45.0–52.5  $\mu\text{m}$  in size. Sterigma was 10–12  $\mu\text{m}$  in length and 3.0–3.5  $\mu\text{m}$  in width. Conidia were globose and 3.5–5.0  $\mu\text{m}$  in size, and the prominent ridges such as in sugar plum were observed on their surface. From the results mentioned above, the isolated fungus, *Aspergillus* sp., was identified with *Aspergillus niger* van Tieghem.

### 緒 言

佐賀県下のタマネギ栽培地帯では夏期つり玉としてタマネギの貯蔵が行われるが、この期間に肌腐れ、芯腐れ、肩腐れおよび尻腐れなどを起して、鱗茎が腐敗し、大きな被害をもたらしている<sup>3,5)</sup>。著者らは鱗茎の腐敗機構の研究<sup>4,5)</sup>を行ってきたが、本報告はこの腐敗に関与する病原菌について検討したものである。すなわち、タマネギの腐敗球から分離される *Aspergillus* sp. の子実体の外部形態を光学顕微鏡および走査電子顕微鏡により観察し、これをタマネギの黒かび病菌 *Aspergillus niger* van Tieghem と比較して、種の同定を行った。本試験を行うに当り、*A. niger* の基準菌株の分譲をうけた財団法人発酵研究所横山竜夫博士に厚く感謝申しあげる次第である。

### 材料および方法

1. タマネギ鱗茎腐敗の実態と病徴：収穫後のタマネギ鱗茎の腐敗は、6月下旬から9月にかけて長期間小屋づりとして貯蔵中に発生し、現地では肌腐れ、芯腐れ、肩腐れなどと呼ばれてきた。肌腐れの病徴は外側の鱗片の外側上部に境界不鮮明な水浸状病斑が出来て、これが次第に拡

大し、軟腐状となった後崩壊して、この部位に多数の黒色胞子を形成し、商品価値をそこなう。芯腐れは最初タマネギ鱗茎の頸部に接した鱗片の先端の空隙に黒色胞子がみられ、その後、この部分が水浸状となり、次第に球心に向って進展し、淡黄色重粘な膿状物を生じ、外側の数鱗片と芯部生長点附近を残して崩壊消失する (Fig. 1-1)。肩腐れは鱗茎の肩の部分の鱗片先端から腐敗が始まり、この部分が崩壊消失する (Fig. 1-2)。

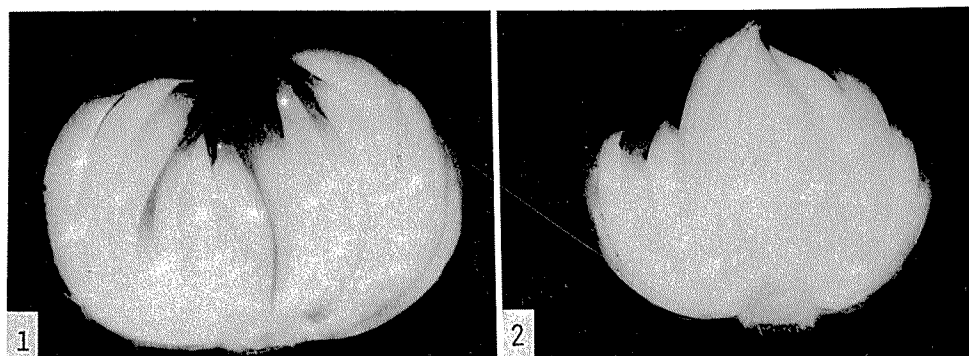


Fig. 1. Onion bulb rot caused by *Aspergillus niger*.

1. Shingusare (Rot of the core part of onion scale)
2. Katagusare (Rot of the shoulder part of onion scale)

2. Czapek 寒天培地上に形成される子実体の形態比較：佐賀大学農学部ほ場に栽培したタマネギの腐敗球から菌の分離を行い、得られた *Aspergillus* sp. (A-1 菌株) を Czapek 寒天培地に 25°C で培養し、10日後に形成された子実体の各器官について、その大きさを光学顕微鏡で計測し、基準菌 *Aspergillus niger* (A-6-1-1) と比較した。

3. 走査電子顕微鏡による形態観察：Czapek 寒天培地に A-1 菌株の胞子を移植して培養し、経時的に、形成された子実体の各器官を培地とともに切り取り、2.5%グルタルアルデヒドで24時間固定し、その後リン酸緩衝液で3回洗滌、次いで1%オスミウム酸溶液で12時間固定した。固定した試料をリン酸緩衝液で再度洗滌し、エタノール系列で脱水し、その試料を酢酸イソアミルで置換した後、臨界点乾燥を行った。乾燥後の資料に金蒸着を行い、走査電子顕微鏡 (日本電子製 F-15) で観察した。

## 結 果

### 1. 培地上に形成された子実体の形態

Table 1. Morphological comparison on fruit bodies of *Aspergillus niger*

Size of organ	Isolate		
	Thom and Fennell <sup>6)</sup>	A-6-1-1	A-1
Conidium	4.0-5.0 $\mu\text{m}$	4.0-5.5 $\mu\text{m}$	3.5-5.0 $\mu\text{m}$
Conidial head	700-800 $\mu\text{m}$	390-700 $\mu\text{m}$	325-720 $\mu\text{m}$
Conidiophore (Diameter)	1.5-3.0 mm (15-20 $\mu\text{m}$ )	1.0-2.3 mm (10-15 $\mu\text{m}$ )	1.25-2.75 mm (12-15 $\mu\text{m}$ )
Vesicle	45-75 $\mu\text{m}$	35-45 $\mu\text{m}$	45-52 $\mu\text{m}$
Phialide	7-10 $\times$ 3.0-3.5 $\mu\text{m}$	9-11 $\times$ 3.0-3.5 $\mu\text{m}$	10-12 $\times$ 3.0-3.5 $\mu\text{m}$

分離した *Aspergillus* sp. (A-1 菌株) の子実体の大きさを Thom and Fennell<sup>6)</sup> の観察結果および基準菌 (A-6-1-1) と対比して示したものが Table 1 である。その結果、本菌は頂のうの大きさにいくらか小さい傾向がみられた以外は、いずれの器官も Thom and Fennell<sup>6)</sup> の報告および基準菌とほとんど一致した。

## 2. 走査電子顕微鏡による子実体形成過程の観察

Czapek 寒天培地上での本菌の菌そうの伸長と子実体の形成時間を示したものが Fig. 2 である。24時間後からコロニーの形成がみられ、48時間で頂のうの形成が始まり、62時間後には孢子

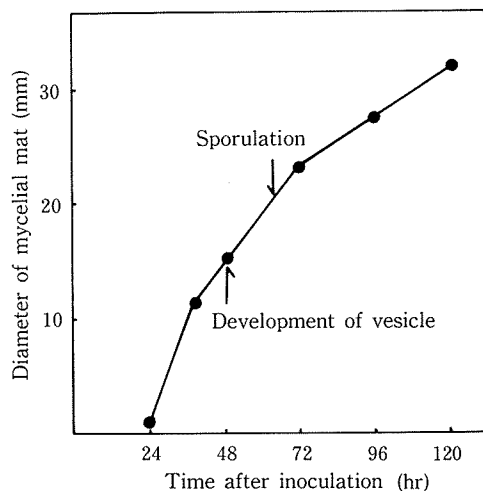


Fig. 2. Mycelial growth and fruit bodies development of *Aspergillus niger* cultured on Czapek agar medium.

の形成が観察された。10日目には Fig. 3 に示すように、培養菌はリング状の黒粉状菌そうを呈し、その直径は 55 mm に達した。子実体の形成過程を走査電子顕微鏡で観察した結果は Fig. 4 に示す通りである。頂のうは球形で、直径約  $10\mu\text{m}$  の分生子柄の先端が肥大し、その大きさは  $45\sim 52\mu\text{m}$  (Fig. 4-1) であった。頂のうの表面に第 1 梗子が密生し (Fig. 4-2)、次いでその上に第 2 梗子を形成 (Fig. 4-3)、さらにその上に、2~3 個のコンベイトウ状の分生胞子を連生した (Fig.

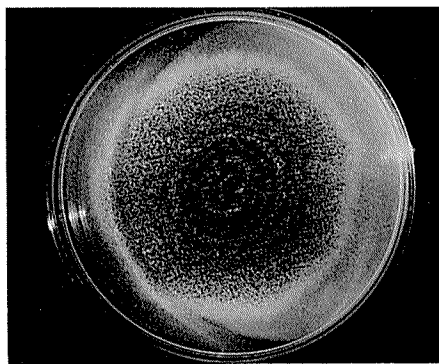


Fig. 3. Mycelial mat of *Aspergillus niger* cultured on Czapek agar medium 14 days after inoculation at  $25^{\circ}\text{C}$ .

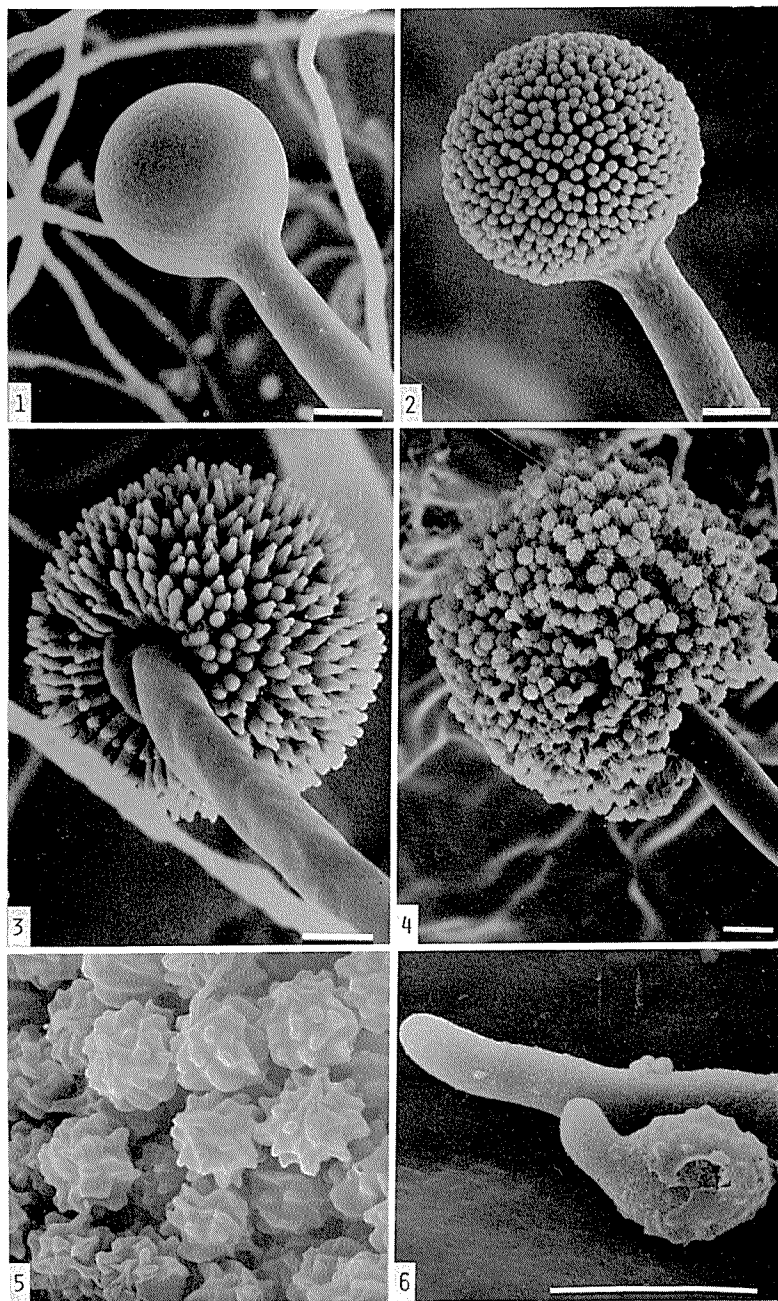


Fig. 4. Scanning electron micrographs of fruit bodies of *Aspergillus niger*.

1. Vesicle, 2. Conidiogenous cell initiation, 3. Phialide and emergence of conidia through ruptured phialide apex, 4. Typical, dense clusters of phialides and conidia, 5. Conidia, 6. Conidia germination. (Bar represents 10  $\mu\text{m}$ )

4-4). これらの器官をすべて包含した分生子頭は黒色、球状で、その大きさは  $325\sim720\mu\text{m}$  であった。胞子の大きさは  $4.2\sim5.0\mu\text{m}$  であった (Fig. 4-5). 胞子は吸水すると膨潤状となり、約2倍に肥大して発芽が始まった。吸水後6~7時間で外膜が破れて発芽管が現れ、その伸長するのが観察された (Fig. 4-6). 光学顕微鏡および電子顕微鏡による観察の結果を総合して、子実体を模式図で示したものが Fig. 5 である。

### 考 察

タマネギ鱗茎の腐敗部から分離される *Aspergillus* sp. の子実体の形態を光学顕微鏡で計測し、さらに、その微細構造を走査電子顕微鏡により観察して、種の同定を行った。 *Aspergillus niger* の分生胞子の大きさについては、遠藤<sup>1)</sup> は醤油寒天培地で培養した場合には  $3.78\sim4.41\mu\text{m}$  と記載し、Thom and Fennell<sup>6)</sup> は Czapek 寒天培地で培養した場合には  $4.0\sim5.0\mu\text{m}$  で、頂のうの大きさは  $45\sim75\mu\text{m}$  であり、その上に第1、第2梗子を形成すると記載している。本実験での計測結果をこれらの報告と比較すると、胞子の大きさが遠藤<sup>1)</sup> の記載とは胞子の大きさ、梗子の数で一致し、頂のうの大きさにいくらか差がみられた。以上のようにタマネギから分離した本菌の形態と先に報告した

タマネギに対する病原性<sup>3,4)</sup> から、本菌は1929年に Machacek<sup>2)</sup> が報告した *Aspergillus niger* van Tieghem と同一菌であると同定した。 *A. niger* の分生胞子と頂のうの微細構造についての報告<sup>6)</sup> はあるが、経時的に子実体の微細構造を観察した報告はみあたらない。本菌の子実体の形成過程を走査電子顕微鏡で観察した結果、頂のう、梗子および胞子の表面構造と配列状態が明らかとなり、特に胞子の表面はコンペイトウ状を呈しており、これが水分を吸収して発芽するときは膨潤状となって肥大した後発芽管が出現することを確認した。

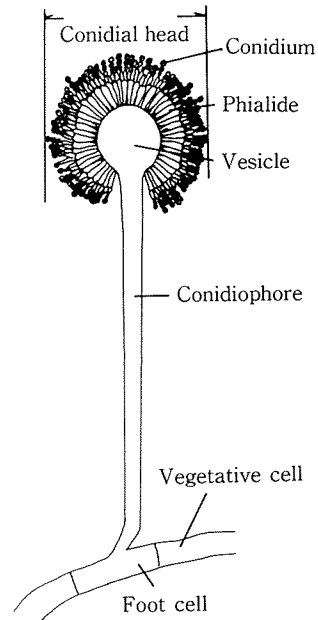


Fig. 5. Schematic diagram of conidium structure of *Aspergillus niger*.

### 摘 要

タマネギ鱗茎の腐敗部から分離した *Aspergillus* sp. の子実体の形態を光学顕微鏡および走査電子顕微鏡で観察し、種の同定を行った。本菌の分生胞子を Czapek 寒天培地で  $25^{\circ}\text{C}$  で培養すると、24時間後にコロニーが現われ、48時間で頂のうが、62時間後には第2梗子上に分生胞子の形成が、それぞれ認められた。分生子頭は  $325\sim720\mu\text{m}$ 、分生子柄の高さは  $1.25\sim2.75\text{mm}$ 、頂のうは  $45.0\sim52.5\mu\text{m}$  で、その上に第1、次いで第2梗子を形成し、その大きさは  $10\sim12\times3.0\sim3.5\mu\text{m}$  であった。さらに、その上に2~3個の分生胞子の形成がみられた。胞子はコンペイトウ状を呈し、その大きさは  $3.5\sim5.0\mu\text{m}$  であった。これらの形態観察の結果から、本菌は *Aspergillus niger* van Tieghem と同定された。

### 引 用 文 献

- 1) 遠藤 茂 (1931). 葱頭の黒微病に就て。病虫雑 **18**, 284-288.

- 2) Machacek J. E. (1929). The black mold of onions caused by *Aspergillus niger* van Tieghem. *Phytopathology* **19**, 733-739.
- 3) 田中欽二・野中福次 (1974). タマネギ鱗茎の腐敗に関与する随伴菌について. 九病虫研会報 **20**, 88-90.
- 4) Tanaka, K. and F. Nonaka (1981). Synergistic action of a pectolytic enzyme and oxalic acid on the rot of onion bulbs caused by *Aspergillus niger*. *Ann. Phytopath. Soc. Japan* **47**, 166-174.
- 5) 田中欽二・野中福次 (1981). 黒かび病菌によるタマネギ鱗茎の腐敗機構に関する研究. 佐賀大農彙 **51**, 47-51.
- 6) Thom, C. and D. I. Fennell (1965). The genus *Aspergillus*. Williams and Wilkins Baltimore, Md. 309-310.